

PENGUNAAN BEBERAPA MEDIUM SEMISINTETIK UNTUK PRODUKSI MISELIUM JAMUR MAITAKE (*Grifola frondosa* (Dickson: Fr.) S. F. Gray) ISOLAT CIANJUR DAN EKSTRAK KASARNYA

MARIA MARDHITAMA MAHARANI, NUNIEK INA RATNANINGTYAS, SLAMET PRIYANTO

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

ABSTRACT

Research on the use of some semisynthetic medium for the production of fungal mycelium Maitake (*Grifola frondosa* (dickson: Fr.) SF Gray) isolates Cianjur and crude extract was performed with an incubation period of 30 days. This study aimed to determine the ability of green bean, cowpea and maize as an alternative material of semisynthetic medium for manufacturing *G. frondosa*'s mycelium and to know the production of *G. frondosa*'s mycelium and the highest crude extract. This study was experimental study with a completely randomized design consisted of 4 treatments : Yeast Potato Dextrose Broth (PDYB) medium, Green bean Yeast Dextrose Broth (GbDYB) medium, Cowpea Yeast Dextrose Broth (CpDYB) medium and Corn Yeast Dextrose Broth (CDYB) medium. The highest average dry weight of mycelium (1,584 g/100ml) was GbDYB medium. The lowest average dry weight of the mycelium (g/100ml 0.244) was PDYB medium. The weight of the crude extract of mycelium in each treatment was lower than the dry weight. The highest weight of the crude extract was obtained from the GbDYB medium treatment (1,22 g) and the lowest was obtained from PDYB medium (0,113 g). Anova test results of different treatment was very significant, meaning that the use of extract of green bean, cowpea and maize greatly affected the growth of *G. frondosa*'s mycelium. The LSD test between treatment of PDYB medium and CDYB medium was not significant, meaning that the increase of mycelium's growth on PDYB medium had no different with the CDYB medium.

KEY WORDS: cowpea, extracellular polysaccharides, *Grifola frondosa*, green beans, maize, mycelium, semisynthetic medium

Penulis korespondensi: MARIA MARDHITAMA MAHARANI | email: dhiethammm@gmail.com

PENDAHULUAN

Budidaya jamur saat ini mendapat perhatian besar karena telah diketahui bahwa jamur memiliki banyak manfaat di antaranya sebagai bahan pangan dan obat-obatan. Jamur yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat dan belum banyak dibudidayakan salah satunya adalah jamur maitake (*Grifola frondosa*). Mizuno dan Zhang, (1995), menyatakan bahwa *G. frondosa* dapat digunakan sebagai bahan makanan dan juga sebagai bahan obat sehingga jamur tersebut sering disebut sebagai "Raja Jamur".

Dasar penggunaan *G. frondosa* sebagai bahan obat, adalah karena jamur tersebut mengandung bahan-bahan atau senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas obat di antaranya adalah senyawa terpena, alkaloid, flavonoid dan polisakarida ekstraseluler. Mizuno *et al* (1995) melaporkan bahwa dari *G. frondosa* telah dapat diisolasi dan dimurnikan lebih dari 20 anti-tumor polisakarida. Polisakarida tersebut merupakan metabolit primer yang dihasilkan oleh *G. frondosa* untuk menyusun dinding selnya sehingga disebut dengan polisakarida ekstraseluler. Menurut Griffin (1993) dan Turner (1971), polisakarida ekstraseluler tersusun dari polimer monosakarida glukosa dan turunan-turunannya. Polisakarida ekstraseluler tersebut mempunyai struktur molekul yang sama yaitu β -1-3-D-glukan dan β -1-6-D glukon. Senyawa tersebut dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi miselium atau tubuh buah *G. frondosa* menggunakan etanol dengan metode maserasi. Kendala yang dijumpai dalam budidaya *G. frondosa* selama ini salah satunya adalah pemilihan medium

yang sesuai untuk menumbuhkan miselium jamur tersebut. Medium cair lebih sering digunakan untuk produksi biomassa miselium *G. frondosa* karena menurut Lee *et al.*, (2004) penggunaan medium cair memiliki kelebihan antara lain masa inkubasi lebih singkat dengan kemungkinan kontaminan yang rendah serta pemanenan lebih mudah. Menurut Stamets (2000) medium cair yang sering digunakan untuk menumbuhkan miselium *G. frondosa* adalah *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB), *Malt Yeast Broth* (MYB), *Malt Yeast Peptone Broth* (MYPB) dan *Dog Food Broth* (DFB).

Wulan pada tahun 2010 juga melakukan penelitian pada medium cair yang biasa digunakan untuk menumbuhkan miselium *G. frondosa* yaitu *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB), *Malt Yeast Broth* (MYB), *Malt Yeast Peptone Broth* (MYPB) dan *Dog Food Broth* (DFB) dengan hasil pada medium PDYB sebagai medium semisintetik diperoleh bobot miselium yang baik (2,0242 gr/150 ml). Medium cair yang sering digunakan untuk menumbuhkan miselium *G. frondosa* masih terbatas jenisnya. Perlu dicoba bahan lain sebagai bahan medium alternatif pertumbuhan *G. frondosa* untuk memperkaya jenis bahan yang dapat digunakan untuk menumbuhkan miselium *G. frondosa*. Mengacu pada hasil penelitian wulan, pertumbuhan miselium pada medium PDYB kemungkinan masih dapat ditingkatkan yaitu dengan menggunakan bahan alternatif lain berupa biji-bijian dalam pembuatan medium semisintetik antara lain adalah kacang hijau (*Phaseolus sp.*), kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dan jagung (*Zea mays*).

Kacang hijau atau *green bean* (*Phaseolus sp.*) dapat digunakan sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik karena kacang hijau memiliki kandungan nutrisi yang kompleks bagi pertumbuhan jamur. Kacang hijau adalah salah satu jenis kacang-kacangan yang banyak digunakan sebagai sumber protein dan memiliki komposisi asam amino esensial yang baik dibandingkan dengan kedelai dan kacang tanah (El-Adawy, 1996; Fan & Sosulski, 1974; Thompson *et al.*, 1976). Kandungan nutrisi pada kacang hijau per 100 gram bobot kering adalah protein kasar 26,6 g, lemak 1,82 g, karbohidrat 63,4 g, abu 3,54 g, serat 4,61 g, raffinosa 0,23 g, stakiosa 1,05 g, pati 54,63 g. Kandungan mineralnya adalah Na 8,95 mg, K 2,88 mg, Ca 80,00 mg, P 370 mg, Mg 48 mg, Fe 8,1 mg dan Mn sebesar 1,55 mg. Kacang hijau selain mengandung nutrisi dan mineral juga mengandung senyawa inhibitor berupa tannin 1,6 mg/g sampel dan asam fitat 4,41 mg/g sampel (Mubarak, 2005).

Kacang tunggak atau *cowpea* (*Vigna unguiculata* L.) juga dapat digunakan sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik pada medium jamur karena selain memiliki nilai gizi yang tinggi dan beragam, harganya pun relatif murah dan mudah didapat. Menurut Tamaroh (2005), dalam 100 gram bobot kering kacang tunggak mengandung protein 22,9 g, lemak 1,1 g, karbohidrat 61,6 g, kalori 324 g, air 11 g, Ca 77 mg, F 449 mg, Fe 6,5 mg, vitamin A 30 SI, vitamin B 0,9 mg dan vitamin C 2 mg.

Bahan lain yang juga dapat digunakan sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik adalah jagung atau *corn* (*Zea mays*). Berdasarkan hasil penelitian Suarni dan Firmansyah (2005) dalam 100 gram jagung mengandung air 11,12 %, abu 1,99%, protein 9,11%, serat kasar 3,02%, lemak 4,97%, karbohidrat 72,81%. Kandungan mineralnya berupa P 299,6 ± 57,8 mg, K 324,8 ± 33,9 mg, Ca 48,3 ± 12,3 mg, Mg 107,9 ± 9,4 mg, Na 59,2 ± 4,1 mg, Fe 4,8 ± 1,9 mg, Cu 1,3 ± 0,2 mg, Mn 1,0 ± 0,2 mg, Zn 4,6 ± 1,2 mg. Penggunaan bahan-bahan alternatif tersebut untuk pembuatan medium pertumbuhan semisintetik miselium *G. frondosa* mengacu pada cara pembuatan medium PDYB. Bahan-bahan tersebut digunakan dalam medium PDYB untuk menggantikan *potato* (kentang).

Penggunaan bahan-bahan alternatif (kacang hijau, kacang tunggak dan jagung) dalam pembuatan medium semisintetik mempunyai beberapa kelebihan antara lain : pertama, mengandung nutrisi dan mineral yang baik untuk pertumbuhan *G. frondosa*. Kedua, proses pengerjaannya relatif mudah, harganya murah dan banyak dijumpai di pasaran. Mengingat bahwa bahan-bahan alternatif yang dapat digunakan untuk pembuatan medium semisintetik mengandung nutrisi dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *G. frondosa* belum pernah atau belum dijumpai hasil penelitiannya, oleh karena itu perlu dilakukan kajian untuk mengetahui apakah penggunaan bahan-bahan tersebut dalam medium semisintetik PDYB mampu digunakan sebagai bahan

alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa* dan ekstrak kasarnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan kacang hijau, kacang tunggak dan jagung sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa*. Selain itu juga untuk mengetahui bahan pengganti alternatif yang mampu menghasilkan miselium *G. frondosa* dan ekstrak kasarnya paling tinggi.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk informasi ilmiah tentang penggunaan kacang hijau, kacang tunggak dan jagung dalam produksi biomassa dan polisakarida ekstraseluler *G. frondosa*. Kajian tentang penggunaan bahan pengganti salah satu komponen medium pertumbuhan *G. frondosa* telah dilakukan akan tetapi masih jarang. Stanley dan Nyenke (2011) telah melakukan penelitian tentang penggunaan medium ekstrak jagung dan berbagai jenis medium lain untuk menumbuhkan jamur *Pleurotus pulmonarius*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa medium dengan ekstrak jagung dapat digunakan untuk pertumbuhan jamur *P. pulmonarius* dengan kecepatan tumbuh 2,4 cm/hari. Berdasarkan penelitian Kim *et al.*, 2002 tentang optimalisasi pertumbuhan miselium dan polisakarida ekstraseluler dari jamur *Paecilomyces sinclairii* menggunakan medium *Yeast Malt* (YM) dengan penambahan beberapa bahan sebagai sumber nitrogen. Sumber nitrogen yang ditambahkan di antaranya adalah *corn steep powder*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa penambahan *corn steep powder* pada media YM menghasilkan pertumbuhan miselium dan produksi polisakarida ekstraseluler paling optimal (bobot miselium kering ±27 g/liter dan polisakarida ekstraseluler sebanyak ±4,5 g/liter) dibandingkan dengan sumber nitrogen yang lain.

Sumiati tahun 2009 telah melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan suplemen tepung kacang hijau, kaldu daging, air kelapa dan ekstrak taoge pada medium baglog terhadap kecepatan pertumbuhan jamur kuping (*Auricularia auricula*). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pertumbuhan miselium jamur kuping paling cepat pada medium dengan suplemen tepung kacang hijau.

Penelitian tentang penambahan kacang tunggak sebagai suplemen atau medium tambahan bagi pertumbuhan miselium dan produksi polisakarida ekstraseluler belum pernah dilakukan. Kacang tunggak juga masih termasuk jenis kacang-kacangan maka diduga dapat menjadi sumber nutrisi yang baik bagi pertumbuhan miselium *G. frondosa*. Menurut penelitian Siemuri *et al.*, (2011) kacang tunggak mengandung asam hidrolisat yang dapat berfungsi sebagai sumber nutrisi yang baik untuk pertumbuhan *yeast* (*S. cerevisiae*) skala laboratorium dengan konsentrasi 0,5 dan 1,0 g/ml dengan pH sekitar 5,56 dan 5,58.

Penggunaan bahan-bahan alternatif (kacang hijau, kacang tunggak dan jagung) dalam pembuatan

medium semisintetik mempunyai beberapa kelebihan antara lain: pertama, mengandung nutrient dan mineral yang baik untuk pertumbuhan *G. frondosa*. Ke dua, proses pengerjaannya relatif mudah, harganya murah dan banyak dijumpai di pasaran. Mengingat bahwa bahan-bahan alternatif yang dapat digunakan untuk pembuatan medium semisintetik mengandung nutrient dan mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *G. frondosa* belum pernah atau belum dijumpai hasil penelitiannya, oleh karena itu perlu dilakukan kajian untuk mengetahui apakah penggunaan bahan-bahan tersebut dalam medium semisintetik PDYB mampu digunakan sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa* dan ekstrak kasarnya. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian mengenai kemampuan kacang hijau, kacang tunggak dan jagung sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa* serta bahan pengganti alternatif yang mampu menghasilkan miselium *G. frondosa* dan ekstrak kasarnya paling tinggi.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yang akan dilakukan adalah stok murni *G. frondosa* isolat Cianjur yang diperoleh dari C. V. Asa Agro Corporation Cianjur, akuades, PDA (*Potato Dextrose Agar*), NaOH 0,1N, fenol, asam sulfat pekat, silika gel GF254 dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1) v/v, KMnO₄ cair, uap I₂, uap ammonia, vanillin-HCl cair, pereaksi dragendorf, *aluminium foil*, *wrap*, alkohol 70% dan 90. Kacang hijau (*Phaseolus* sp.), kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dan jagung (*Zea mays*) yang diperoleh dari Pasar Wage Purwokerto

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi; Autoklaf (YQX.SG41, China); Kompor gas (Hitachi, Japan); *Beaker glass* volume 50, 100, dan 1000 ml; Gelas ukur volume 10 dan 1000 ml; *Hot plate magnetic stirrer* (Ika labortechnik); Rak tabung reaksi, almari mendingin (Toshiba, Japan); Cawan petri; Jarum ose, lampu spritus, *sprayer*, *laminar air flow* (LAF), pH meter (Hanna instrument); Bor gabus, labu Erlenmeyer volume 250 ml; *Shaker orbital* (Lab-line instrument, Inc); Corong *buchner*, labu *buchner*; *Vacuum pump*, timbangan analitik (Explorer Ohaus 0,0000gr, USA); Oven (Mettler, Germany); Blender (Maspon, Indonesia); Mikropipet, pipet ukur, *filler* dan botol vial, saringan, kertas *tissue*, kertas label, kertas saring Whatman No. 41 dan batang pengaduk.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi dan Fitopatologi Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman dan Laboratorium Riset Universitas Jenderal Soedirman. Waktu pelaksanaan dimulai dari bulan April sampai Agustus 2012.

Penelitian ini telah dilakukan menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dicobakan adalah penggunaan kacang tunggak, kacang hijau dan jagung sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik pada medium pertumbuhan jamur *G. frondosa* yaitu:

M0 = Medium *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB),

M1 = Medium *Cowpea Dextrose Yeast Broth* (CpDYB),

M2 = Medium *Green bean Dextrose Yeast Broth* (GbDYB),

M3 = Medium *Corn Dextrose Yeast Broth* (CDYB).

Seluruh perlakuan diulang sebanyak 6 kali sehingga terdapat 24 unit percobaan.

Variabel-variabel yang digunakan adalah variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu penggunaan kacang hijau, kacang tunggak dan jagung sebagai bahan alternatif pembuatan medium semisintetik untuk pertumbuhan miselium *G. frondosa*. Variabel terikatnya adalah produksi miselium *G. frondosa* dan ekstrak kasarnya. Parameter utama yang diamati yaitu bobot kering miselium dan bobot ekstrak kasar miselium *G. frondosa*, parameter pendukungnya adalah pH medium, senyawa alkaloid, terpenoid dan flavonoid dalam ekstrak kasar miselium *G. frondosa*.

Sterilisasi Alat mengacu pada (Ratnaningtyas *et al.*, 2012). Alat yang digunakan dalam penelitian (tabung reaksi, cawan petri, bor gabus, labu Erlenmeyer ukuran 250 ml, pipet ukur) disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit. Jarum ose disterilisasi dengan cara disemprot alkohol kemudian dibakar langsung pada api spritus.

Pembuatan medium PDA (Dharmaputra, 1989). Kentang dikupas dan ditimbang seberat 200 gram kemudian dicuci bersih, dan dipotong-potong kurang lebih dengan ukuran 2 x 2 x 2 cm. Kentang tersebut direbus dengan 500 ml akuades dalam *beaker glass* volume 1.000 ml sampai kentang lunak. Air rebusan kentang disaring dengan saringan dan hasil saringannya ditampung dalam *beaker glass* volume 1.000 ml. Ditambahkan ke dalam tabung sebanyak 20 gr dextrose, 16 gr agar dan akuades sampai volume akhir 1.000 ml kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Medium setelah homogen selanjutnya dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml untuk masing-masing tabung kemudian ditutup dengan kapas dan disterilisasi.

Peremajaan Isolat (Ratnaningtyas *et al.*, 2012). Medium PDA dalam tabung reaksi dipanaskan hingga mencair, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan dingin. Biakan murni *G. frondosa* isolat Cianjur yang diperoleh dari C. V. Asa Agro Corporation Cianjur diambil satu plug dan diinokulasikan pada medium PDA secara aseptis. Cawan petri yang telah diinokulasikan dengan isolat *G. frondosa* selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang hingga miselium memenuhi cawan (30 hari).

Pembuatan Medium Kontrol : *Potato Dextrose Yeast Broth* (PDYB) (Stamets, 2000). Kentang dikupas dan ditimbang seberat 300 gram kemudian dicuci bersih, dan dipotong-potong kurang lebih dengan ukuran 2 x 2 x 2 cm. Potongan-potongan kentang tersebut direbus dengan 500 ml akuades dalam *beaker glass* volume 1.000 ml sampai lunak (1-1,5 jam). Larutkan 2 gram yeast ekstrak, 10 gram dextrose, 1 gram pepton dengan 400 ml akuades dalam *beaker glass* volume 1.000 ml kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan. Larutan tersebut kemudian ditambahkan ke dalam air rebusan kentang yang telah disaring dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 ml kemudian dihomogenkan.

Derajat keasaman (pH) medium diukur menggunakan pH meter. Cara pengukurannya, pH meter dinyalakan dan tombol pengatur suhu disesuaikan dengan suhu medium yang akan diukur. Elektroda dicuci dengan akuades kemudian dilap dengan *tissue* sampai kering. Pengukuran pH dilakukan dengan memasukkan elektroda ke medium dan nilai pH terbaca dicatat sebagai pH akhir medium. Medium dituang ke dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml kemudian ditutup dengan kapas serta *aluminium foil* dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit.

Pembuatan Medium Perlakuan : *Cowpea Dextrose Yeast Broth* (CpDYB) (Stamets, 2000). Sebanyak 300 gram kacang

tunggak yang bernas dicuci bersih dan direbus dengan 500 ml akuades dalam beaker glass volume 1.000 ml sampai lunak (1-1,5 jam). Larutkan 2 gram yeast ekstrak, 10 gram *dextrose*, 1 gram pepton ke dalam 400 ml akuades kemudian dipanaskan menggunakan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Larutan tersebut kemudian ditambahkan ke dalam air rebusan kacang tunggak yang telah disaring dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 ml kemudian dihomogenkan.

Derajat keasaman (pH) medium diukur menggunakan pH meter seperti pengukuran pH yang telah dilakukan pada medium sebelumnya. Medium dituang ke dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml kemudian ditutup dengan kapas serta alumunium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit.

Pembuatan Medium Perlakuan : *Green bean Dextrose Yeast Broth* (GbDYB), (Stamets, 2000). Sebanyak 300 gram kacang hijau yang bernas dicuci bersih dan direbus dengan 500 ml akuades dalam beaker glass volume 1.000 ml sampai lunak (1-1,5 jam). Larutkan 2 gram yeast ekstrak, 10 gram *dextrose*, 1 gram pepton ke dalam 400 ml akuades kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Larutan tersebut kemudian ditambahkan ke dalam air rebusan kacang hijau yang telah disaring dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 ml kemudian dihomogenkan.

Derajat keasaman (pH) medium diukur menggunakan pH meter seperti pengukuran pH yang telah dilakukan pada medium sebelumnya. Medium dituang ke dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml kemudian ditutup dengan kapas serta alumunium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit.

Pembuatan Medium Perlakuan : *Corn Dextrose Yeast Broth* (CDYB) (Stamets, 2000). Sebanyak 300 gram jagung yang bernas dicuci bersih dan direbus dengan 500 ml akuades dalam beaker glass volume 1.000 ml sampai lunak (1-1,5 jam). Larutkan 2 gram yeast ekstrak, 10 gram *dextrose*, 1 gram pepton ke dalam 400 ml akuades kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Larutan tersebut kemudian ditambahkan ke dalam air rebusan jagung yang telah disaring dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 ml kemudian dihomogenkan.

Derajat keasaman (pH) medium diukur menggunakan pH meter seperti pengukuran pH yang telah dilakukan pada medium sebelumnya. Medium dituang ke dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml kemudian ditutup dengan kapas serta alumunium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit.

Inokulasi Miselium ke dalam Medium (Lee *et al.*, 2003). Diiapkan medium steril yang digunakan (PDYB, CpDYB, GbDYB, CDYB). Ke dalam masing-masing medium tersebut, diinokulasikan sebanyak lima plug koloni isolat *G. frondosa* yang diambil dari medium peremajaan. Caranya bagian tepi koloni diambil dengan bor gabus berdiameter 5 mm. Medium yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 30 hari menggunakan *orbital shaker*.

Pemanenan Miselium *G. frondosa* (Uyanoglu *et al.*, 2010). Kultur miselium yang telah berumur 30 hari dipanen dan disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 41, untuk mempercepat penyaringan digunakan *vacuum pump*. Miselium dari masing-masing sampel yang telah tersaring ditimbang bobot basahnya kemudian dikeringkan dalam

oven pada suhu 60°C sampai diperoleh bobot yang konstan kemudian ditimbang bobot keringnya dan hasilnya dicatat.

Pengukuran pH akhir medium (Hadioetomo, 1993). Pengukuran pH akhir medium dilakukan pada filtrat medium yang telah dipisahkan dari miseliumnya menggunakan pH meter. Cara pengukurannya sama dengan pengukuran pH yang telah dilakukan pada medium sebelumnya.

Pembuatan Ekstrak Kasar Miselium *G. frondosa* yang diperoleh dari masing-masing medium dengan Etanol (Harborne, 1987). Miselium kering yang telah ditimbang selanjutnya diekstrak. Cara ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi. Miselium yang telah diperoleh diblender hingga halus kemudian ditambah etanol 96% dengan perbandingan 1:9 dan diinkubasi selama 1 x 24 jam kemudian disaring, dengan kertas saring Whatman No. 41, perendaman dengan alkohol dilakukan sebanyak tiga kali. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan pada suhu 60°C dengan *waterbath* untuk menghilangkan etanolnya sehingga diperoleh ekstrak kental miselium *G. frondosa* dengan bobot konstan. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang bobotnya dan diuji kandungan polisakaridanya secara kualitatif.

Uji Kualitatif Polisakarida Ekstraseluler Ekstrak Etanol (Dubois *et al.*, 1956). Ekstrak kasar etanol miselium *G. frondosa* kental yang sudah diperoleh selanjutnya diuji secara kualitatif menggunakan uji warna. Ekstrak kental sebanyak 40 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 0,5 ml pereaksi fenol 5% dan 2,5 ml asam sulfat pekat. Warna yang terbentuk diamati, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning hingga oranye.

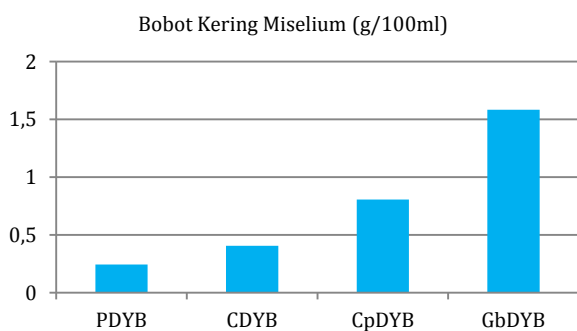
Deteksi Senyawa Fenol Terpenoid, Alkaloid dan Flavonoid Ekstrak Kasar Miselium *G. frondosa* secara Kualitatif (Harborne, 1987). Deteksi senyawa aktif ekstrak miselium *G. frondosa* dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui ada tidaknya senyawa golongan alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Lempeng kromatografi lapis tipis silika gel GF₂₅₄ dipotong dengan ukuran 1 x 10 cm, kemudian dibuat garis batas atas dan bawah. Jarak antara ujung lempeng silika gel GF₂₅₄ dengan garis batas bawah adalah 1 cm, untuk batas atas adalah 2 cm. Ekstrak miselium *G. frondosa* ditotolkan pada bagian tengah garis batas bawah sebanyak lima totol, kemudian dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam bejana yang sudah jenuh dengan fase gerak.

1. Deteksi Alkaloid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1) v/v. Bercak yang terelusi dideteksi dengan UV 254 nm dan penyemprotan dengan pereaksi dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak berwarna oranye.
2. Deteksi Terpenoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1) v/v. Bercak yang terelusi dideteksi dengan menyemprotkan KMnO₄ dan diberi uap I₂. Adanya terpenoid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak berwarna coklat.
3. Deteksi Flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1) v/v. Bercak yang terelusi dideteksi dengan UV 254 nm dan diberi uap ammonia serta penyemprotan dengan vanillin-HCl. Kandungan flavonoid ditunjukkan oleh terbentuknya yang terlihat berwarna secara visible atau perubahan fluoresensi bercak setelah diberi uap ammonia. Bercak berwarna merah lembayung atau ungu setelah penyemprotan pereaksi vanillin-HCl menunjukkan adanya flavonoid.

Metode Analisis (Scheffler, 1987). Data hasil percobaan yang berupa bobot kering miselium dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) dilanjutkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat ketelitian 99% dan 95%. Bobot ekstrak kasar tidak dianalisis menggunakan ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran terhadap bobot kering miselium *Grifola frondosa* yang ditumbuhkan pada berbagai medium menunjukkan bahwa kemampuan tumbuh miselium jamur pada tiap-tiap medium berbeda. Hal tersebut dilihat dari bobot kering rata-rata miselium *G. frondosa* yang diperoleh. Bobot kering rata-rata tertinggi dihasilkan pada medium GbDYB sebesar 1,584 g/100 ml, bobot terendah pada medium PDYB sebesar 0,244 g/100 ml. Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram bobot kering miselium *G. frondosa* pada medium PDYB, CDYB, CpDYB dan GbDYB.

Data pada Gambar 1 selanjutnya dianalisis menggunakan analisis varian uji F (ANOVA) dengan tingkat ketelitian 99% dan 95%, untuk mengetahui apakah ekstrak kacang hijau, kacang tunggak dan jagung dapat digunakan sebagai alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa*. Hasil uji F dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji F (Tabel 1), dapat diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata, artinya bahwa penggunaan ekstrak kacang hijau, kacang tunggak dan jagung dalam medium PDYB sangat mempengaruhi pertumbuhan miselium *G. frondosa*. Penggunaan ekstrak tersebut mampu meningkatkan pertumbuhan miselium *G. frondosa* yang dapat diketahui dari bobot kering miselium rata-rata pada medium GbDYB, CpDYB dan CDYB lebih berat dibandingkan dengan bobot kering yang dihasilkan pada medium PDYB.

Pertumbuhan miselium *G. frondosa* pada medium dengan penambahan ekstrak kacang hijau, kacang tunggak, jagung lebih baik dibandingkan dengan pertumbuhan miselium pada medium PDYB. Hal tersebut dikarenakan adanya penambahan nutrisi dari masing-masing ekstrak yang digunakan sehingga ketersediaan nutrisi dalam medium lebih mendukung pertumbuhan miselium *G. frondosa*.

Glukosa hasil pemecahan pati, oleh *G. frondosa* digunakan sebagai sumber karbon dan energi untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler (β -glukan)

yang merupakan komponen dinding sel. Polisakarida ekstraseluler yang disintesis oleh *G. frondosa* dapat diketahui dari hasil uji kualitatif ekstrak miselium menggunakan reaksi warna fenol-asam sulfat. Asam-asam amino dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen dan bahan pembentuk protein untuk sintesis membran sel bersama-sama dengan *lipid bilayer*.

Hasil uji BNT pengaruh antar perlakuan terhadap bobot kering miselium dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tabel Beda Nyata Terkecil Pengaruh antar perlakuan terhadap bobot kering miselium *G. frondosa*.

No.	Perlakuan	Rata-Rata Bobot Kering Miselium
1	PDYB	0,244 ^a
2	CDYB	0,406 ^a
3	CpDYB	0,806 ^b
4	GbDYB	1,584 ^c

Keterangan :

Angka dengan huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata, angka dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata

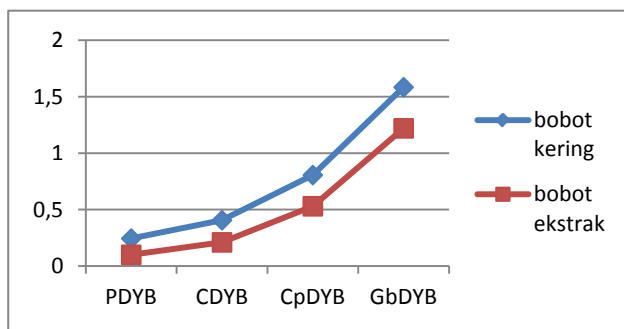
Berdasarkan hasil uji BNT dapat diketahui bahwa antara perlakuan PDYB dan CDYB berbeda tidak nyata, artinya bahwa peningkatan pertumbuhan miselium pada medium PDYB tidak berbeda dengan pada medium CDYB. Hal tersebut terjadi mungkin disebabkan karena pertama, kandungan nutrisi yang terdapat pada medium PDYB dan CDYB hampir sama. Kedua, kandungan protein dalam jagung yang hanya 9,11% mampu menyediakan unsur N sebanding dengan N yang di dalam medium PDYB.

Tabel uji BNT juga dapat menunjukkan produksi miselium tertinggi yaitu pada medium GbDYB. Hal ini disebabkan karena medium tersebut memiliki nutrisi yang paling tinggi dibandingkan dengan medium PDYB, CDYB dan CpDYB sehingga mampu menyediakan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan miselium paling banyak. Akibat tersedianya nutrisi yang dapat digunakan oleh miselium tinggi pada medium GbDYB, maka pertumbuhan miselium juga menjadi paling baik (Gambar 1).

Mengingat bahwa bobot kering rata-rata miselium yang diperoleh dari masing-masing perlakuan adalah rendah, maka untuk ekstraksinya dilakukan dengan cara mengakumulasi miselium yang diperoleh dari tiap-tiap ulangan. Bobot ekstrak tertinggi yaitu sebesar 1,22 gr diperoleh dari medium GbDYB, terendah sebesar 0,113 gr diperoleh dari miselium yang ditumbuhkan pada medium PDYB. Data bobot ekstrak kasar dapat dilihat pada Grafik. Bobot kering rata-rata miselium dan bobot ekstrak kasarnya selanjutnya dibuat grafik untuk mengetahui apakah ada keterkaitan antara bobot kering miselium dan bobot ekstrak kasarnya. Hasilnya dapat dilihat pada Grafik (Gambar 2).

Gambar 2 menunjukkan bahwa ada keterkaitan antara bobot kering miselium dan bobot ekstrak kasarnya. Artinya, semakin besar bobot kering miselium yang diperoleh, bobot ekstrak kasarnya semakin besar juga meskipun besarnya tidak sama

(bobot kering miselium lebih berat daripada bobot ekstrak kasarnya).



Gambar 2. Grafik bobot kering miselium dan bobot ekstrak miselium *G. frondosa*

Bobot kering miselium dengan bobot ekstrak kasarnya saling berkaitan karena dalam miselium mengandung senyawa metabolit primer dan sekunder. Senyawa-senyawa tersebut larut selama proses ekstraksi miselium yang menggunakan pelarut polar. Leal *et al.*, (1997) dan Santos *et al.*, (2000), menyatakan bahwa metabolit primer yang terkandung dalam miselium *G. frondosa* salah satunya adalah polisakarida ekstraseluler. Senyawa tersebut merupakan konstituen utama dari dinding sel jamur yang tersusun dari β -1,3-D-glukan dan mengandung beberapa cabang β -1,6-linked. Senyawa metabolit primer dan sekunder dapat diketahui dari hasil uji kualitatif menggunakan pereaksi warna. Jenis senyawa tersebut di antaranya adalah polisakarida, alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Menurut Wasser dan Weis (1999); Jose dan Radhamany, (2012), jamur obat menghasilkan metabolit sekunder untuk kepentingan terapeutik seperti fenol, lektin, lakton, terpenoid, alkaloid, antibiotik, flavonoid, saponin dan kelat logam agen, yang juga penting untuk fungsi kekebalan tubuh organisme. Berdasarkan hal tersebut maka setelah proses ekstraksi, ekstrak kasarnya masih mempunyai bobot, meskipun bobotnya lebih rendah dari bobot kering miseliumnya.

Miselium *G. frondosa* selain mensintesis metabolit primer juga dapat mensintesis metabolit sekunder. Hal tersebut dapat diketahui dari hasil uji kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil dari uji kualitatif dari miselium yang ditumbuhkan pada tiap-tiap medium menunjukkan hasil positif yang berarti masing-masing ekstrak mengandung senyawa terpenoid, alkaloid dan flavonoid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa kacang hijau, kacang tunggak dan jagung mampu menjadi bahan alternatif pembuatan medium semisintetik untuk produksi miselium *G. frondosa*. Produksi miselium *G. frondosa*

paling banyak adalah pada medium semisintetik ekstrak kacang hijau GbDYB sebesar 1,584 gr/100ml dengan bobot ekstrak kasarnya sebesar 1,22 gr.

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang penambahan ekstrak kacang hijau, kacang tunggak dan jagung dengan berbagai konsentrasi sehingga dapat diketahui konsentrasi yang dapat menghasilkan miselium *G. frondosa* paling tinggi.

DAFTAR REFERENSI

- Dharmaputra OS, Agustin WG, Nampiah. 1989. Penuntun Praktikum: Mikologi Dasar. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Bogor: IPB.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Griffin D. 1993. *Fungal Physiology*. New York: J. Wiley. 458 p.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktik Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta : Gramedia.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Inoue A, Kodama N, Nanba H. 2002. Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the control of the T-Lymph node Th-1/Th-2 poportion. *Biology Pharmacy*. 25: 536-540.
- Jose SG, Radhamany PM. 2012. Identification and determination of antioxidant constituents of bioluminescent mushroom. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012: S386-S391.
- Kim SW, Hwang HJ, Xu CP, Na YS, Song SK, Yun JW. 2002. Influence of nutritional conditions on the mycelial growth and exopolysaccharide production in *Paecilomyces sinclairii*. *Letters in Applied Microbiology*. 2002(34): 389-393.
- Kim YR. 2003. Production of Polysaccharide by the Edible Mushroom, *Grifola frondosa*. *The Korean Society of Mycology. Mycobiology*. 31(4): 205-208.
- Kodama M, Komuta K, Sakai N, Nanba H. 2002. Effects of D-Fraction a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor Growth involve activation of N K cells. *Biology Pharmacy*. 25: 1647-1650.
- Leal GMB, Prieto A, Domenech J, Ahrazem O, Bernabe' M. 1997. Possible chemotypes from cell wall polysaccharides, as an aid in the systematics of *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. *Mycol Res*. 101:1259-1264.
- Mizuno, T., Zhuang, C. and Maitake, C. 1995. *Grifola frodosa*: Pharmacological effects. *Food Rev. Int.* 11: 135-149.
- Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude GA. 2007. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int Immunopharmacol*. 7: 701-724.
- Mubarak AE. 2005. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. *Food Chemistry*. 89 (2005): 489-495.
- Prasetyo S. 2010. Penggunaan beberapa medium agar untuk pertumbuhan miselium jamur Maitake (*Grifola frondosa* (Dicks : Fr) S. F. Gray) [skripsi]. Universtas Jenderal Soedirman-Purwokerto.
- Ratnaningtyas NI, Mumpuni A, Purnomowati, Ekowati NA, Risyanto S, Dewi RS. 2012. Petunjuk Praktikum Mikologi. Purwokerto: Fakultas Biologi, Universtas Jenderal Soedirman.
- Santos A, Marquina D, Leal JA', Peinado JM. 2000. (1-6)-b- D-glucan as cell wall receptor from *Pichia membranifaciens* Killer toxin. *Appl Environ Microbiol*. 66:1809-1813.
- Scheffler WC. 1987. *Stastistika untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang Bertautan* [diterjemahkan oleh Suroso]. Bandung: Penerbit ITB.